

JP3060239B2

Patent number: JP3060239B2
Publication date:
Inventor:
Applicant:
Classification:
- international:
- european:
Application number:
Priority number(s):

Also published as:

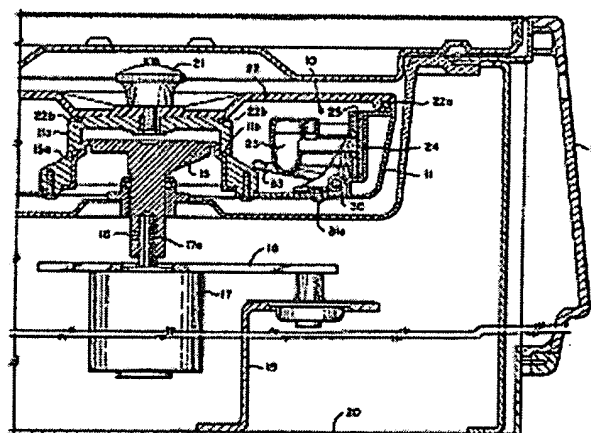
WO9308895 (A1)
US5252228 (A1)
GB2276104 (A)

Report a data error here

Abstract not available for JP3060239B2

Abstract of corresponding document: **US5252228**

Cytocentrifugation apparatus is improved by providing centrifuging devices with a plurality of liquid-receiving chambers arranged serially along and opening into an elongate conduit leading to and terminating within a filter-pad-holder so that a filter-pad-pretreating liquid can be passed along such conduit and into a liquid-flow opening of a filter pad held by such holder in advance of passage along said conduit and through such liquid-flow opening in the filter pad of a cell-carrying liquid sample during a centrifugation run of the apparatus. Retention of pretreating liquid in the filter pad around the sample liquid flow helps to prevent loss of cells to the filter pad. Various other structural modifications of the cytocentrifugation device and filter pads used therewith also help to prevent loss of cells to the filter pad.



Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3060239号
(P3060239)

(45) 発行日 平成12年7月10日(2000.7.10)

(24) 登録日 平成12年4月28日(2000.4.28)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

G 0 1 N 1/28
33/48G 0 1 N 1/28
33/48
1/28V
C
J

請求項の数18(全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平5-508737

(86) (22) 出願日 平成4年11月4日(1992.11.4)

(65) 公表番号 特表平7-500914

(43) 公表日 平成7年1月26日(1995.1.26)

(86) 国際出願番号 P C T / U S 9 2 / 0 9 5 4 8

(87) 国際公開番号 W O 9 3 / 0 8 8 9 5

(87) 国際公開日 平成5年5月13日(1993.5.13)

審査請求日 平成11年8月20日(1999.8.20)

(31) 優先権主張番号 7 8 8 , 3 1 0

(32) 優先日 平成3年11月5日(1991.11.5)

(33) 優先権主張国 米国 (U S)

(73) 特許権者 999999999

ウエスコ インク.

アメリカ合衆国 ユタ州 84321 ロー
ガン サウス メイン ストリート
459番地

(72) 発明者 ストークス, バリー ディー.

アメリカ合衆国 ユタ州 84321 ロー
ガン ノース 1200 イースト 1591番
地

(72) 発明者 キランテ, カメロ ジー.

アメリカ合衆国 ユタ州 84321 ロー
ガン イーストリッジ ドライブ 1225
番地

(74) 代理人 999999999

弁理士 廣江 武典

審査官 中楨 利明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞遠心分離器具、装置及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】遠心力手段を有する遠心分離機において使用するものであり、細胞運搬液に含まれる細胞を遠心力を利用して顕微鏡スライド上に付着する細胞遠心分離器具であって、液体を通過させる開口部を有するフィルターパッドを保持するためのフィルターパッド保持手段と、フィルターパッドの前記開口部縁部周辺で該フィルターパッドをスライドに押し付けるように作用する前記保持手段のある放出端部に至り終結する導管と、該導管に沿って順次関係し、該導管内に開口している放出ポートをそれぞれ有する少なくとも2つの液体収容チャンバーとを有しており、該液体収容チャンバーは前記導管内に液体を連続的に放出する構造であることを特徴とする細胞遠心分離器具。

【請求項2】前記保持手段は、その底部と上部に沿って

フィルターパッド保持部材を有するフィルターパッド保持リセプタクルであることを特徴とする請求項1記載の細胞遠心分離器具。

【請求項3】前記フィルターパッド保持部材は、前記導管の放出端部の幅よりも多少長い縦方向の一部に沿って凹設されており、本器具を搭載するロータのスライドクランプ手段によって保持されるスライドの面から細胞が拭き取られることを防止することを特徴とする請求項2記載の細胞遠心分離器具。

【請求項4】前記保持手段によって保持されるフィルターパッドを含んでおり、該フィルターパッドは前記開口部の縁部に相対的に薄い周辺部を有しており、該フィルターパッドの他の部分は相対的に厚く、該フィルターパッドによって吸収される液体の貯蔵体として作用することを特徴とする請求項2記載の細胞遠心分離器具。

【請求項5】保持されたフィルターパッドに対する前記フィルターパッドリセプタクル内へのフィルター処理のために、前記フィルターパッド保持手段の一部として前記導管の放出端部のすぐ後ろで横方向にクランププレートが前記導管に取り付けられており、前記フィルターパッド保持手段は前記クランププレートを受け止めて保持するための簡易固定手段を有していることを特徴とする請求項2記載の細胞遠心分離器具。

【請求項6】前記導管の放出端部は前記フィルターパッド保持手段内のフィルターパッドに対するクランプを施すための峰付きリングとして成形されていることを特徴とする請求項1記載の細胞遠心分離器具。

【請求項7】遠心力手段を備えた細胞遠心分離機にて使用するものであり、遠心力作用によって顕微鏡スライド上に付着される細胞を運搬する細胞運搬液を含む複数の異なる液体を収容するための細胞遠心分離器具であって、液体を通過させる開口部を有するフィルターパッドを保持するためのフィルターパッド保持手段と、液体収容チャンパーと、本器具に遠心力を適用して顕微鏡スライドの面に前記チャンパーからの液体を放出するために、該チャンパーとの横方向連通部から前記保持手段まで延びている導管とを有しており、該チャンパーは該導管との前記連通部より下方に延びる凹部を有しており、該凹部は前記チャンパー内の液体への遠心力作用時以外には該チャンパーからの液体放出を防止するウエル部を形成しているものであり、前記導管上方で前記第1チャンパーと略直線上に配置され、底部が該導管内に開口している少なくとも1体の他の液体収容チャンパーをさらに有していることを特徴とする細胞遠心分離器具。

【請求項8】前記少なくとも1体の他のチャンパーは、他のどのチャンパーよりも前記保持手段に近く配置されており、フィルターパッド湿潤液を収容するものであることを特徴とする請求項7記載の細胞遠心分離器具。

【請求項9】前記第1チャンパー及び前記1体の他のチャンパーと略直線上にさらに別の液体収容チャンパーが配置されていることを特徴とする請求項7記載の細胞遠心分離器具。

【請求項10】前記別の液体収容チャンパーは、前記第1チャンパー同様に堰部を形成する凹部を有していることを特徴とする請求項9記載の細胞遠心分離器具。

【請求項11】前記別のチャンパーは、前記第1チャンパーに続いて直線上に配置されていることを特徴とする請求項10記載の細胞遠心分離器具。

【請求項12】前記導管は略水平であり、前記少なくとも1体の他のチャンパーからその内部に排出されたとの液体も、遠心力の作用以外には、表面張力作用によって前後移動が妨害されることを特徴とする請求項7記載の細胞遠心分離器具。

【請求項13】細胞遠心分離機にて使用するフィルターパッドであって、液体を通過させる開口部を有するフィ

ルターシート材料にて作成されており、該フィルターシート材料は前記開口部の周縁部では相対的に薄く、他の部分では前記開口部を通過する液体から取り出された液体を貯蔵する貯蔵体として機能するように相対的に厚くなっていることを特徴とするフィルターパッド。

【請求項14】複数の着脱可能な細胞遠心分離器具が装着される細胞遠心ロータであって、前記各器具は液体を通過させる開口部を有するフィルターパッドを保持するためのフィルターパッド保持手段と、フィルターパッド内の前記開口部の周縁部で該フィルターパッドをスライドに対して押し付ける前記保持手段での放出端部に至り終結する導管と、該導管に沿って順次関係し、該導管内に開口している放出ポートをそれぞれ有する少なくとも2つの液体収容チャンパーとを有しており、該液体収容チャンパーは前記導管内に液体を連続的に放出する構造を有するものであり、前記各器具に対するクランプ手段をさらに有しており、該各クランプ手段はその関与した器具が外されたときに本ロータによって取り外せないように固定されていることを特徴とする細胞遠心ロータ。

【請求項15】各クランプ手段は、設置された細胞遠心分離器具の導管を横切るように延びている直立壁部材を有して前記器具の前記保持手段と対面する前面に沿って顕微鏡スライドを受け止める構造の顕微鏡スライド保持手段を有しており、前記壁部材は前記器具の前記フィルターパッド保持手段を受け止めて保持するために該壁部材の前面から離れている直立端部を有するベース部材を形成する前方延出部を有するものであり、該ベース部材の前記両直立端部間に回転自在に取付けられたシャフトと、前記器具の導管を中間部に受け止め、該器具の取付フィルターパッド保持手段を支持するために該シャフトに取り付けられて上方に延び出た一対のクランプアームと、前記器具の前記フィルターパッド保持手段に対して該アームを移動させるように前記シャフトを回転させるためのレバーとして作用する該シャフトの一端に一端部にて取り付けられた長いハンドルと、前記アームに対してクランプ圧力を作用させるために前記シャフトに取付けられたスプリング手段と、前記器具の導管の両反対側から外側に向けて延び出ている一対のピン部材とをさらに有しており、前記器具を前記ロータから外し前記スライドを前記クランプ手段の前記壁部材から外すことを望むときに、該クランプ手段内に取り付けられたフィルターパッドホルダーと共に前記器具を取り外せるように該器具が設置されているときには、前記ピン部材は前記アームの背後に存在することを特徴とする請求項14記載の細胞遠心ロータ。

【請求項16】前記細胞遠心分離器具の前記フィルターパッド保持手段はフィルターパッドの挿入と引出しのための着脱手段を有するフィルターパッドリセプタクルであることを特徴とする請求項14記載の細胞遠心ロータ。

【請求項17】前記細胞遠心分離器具の前記フィルター

パッド保持手段は引出し不能に保持されたフィルターパッドを含むフィルターパッドリセプタクルであることを特徴とする請求項14記載の細胞遠心ロータ。

【請求項18】顕微鏡スライド上に細胞を付着及び粘着 (deposition and adhering) させる細胞遠心分離法であって、細胞遠心分離装置の細胞遠心分離器具内の導管に沿って順次配列されて該導管内に開口している複数のチャンバーのうちの1体のチャンバー内に細胞運搬液 (cell-carrying liquid) サンプルを収容するステップを含んでおり、該導管はフィルターパッド保持手段に至り終結し、該フィルターパッド保持手段内で、該フィルターパッド保持手段によって保持されているフィルターパッドの開口部の周縁部で該フィルターパッドは圧縮されており、遠心力作用によって前記液体サンプルは前記開口部を通過する構造となっており、前記順次配列されたチャンバーのうち前記フィルターパッド保持手段方向の直線上の第1番目である前記複数のチャンバーの1チャンバー内にフィルターパッド予備湿潤液を収容するか、あるいは、前記順次配列されたチャンバーのうちの前記液体サンプル収容チャンバーの次に直線的に配置された1チャンバー内に細胞固定液を収容するかのいずれかのステップと、前記細胞遠心分離装置を操作するステップとをさらに含んでいることを特徴とする細胞遠心分離法。

【発明の詳細な説明】

発明の背景

分野：本発明は一般的な医療研究用機械器具に関するものであり、特に、細胞遠心分離機、即ち、顕微鏡スライド上に細胞懸濁液からの細胞を遠心力を利用して付着するための装置と、そのような装置の使用法とに関する。

従来技術：このようなタイプの装置は従来より開発されており、広範に利用されている。最も広く知られた細胞遠心分離機は英国ランコーンのシャンドン・サザン・プロダクツ社によって製造、あるいはライセンス製造されている「シトプシン (Cytopsin)」であろう。これは1983年7月5日に発行されたゴードンのアメリカ合衆国特許第4,391,710号及び1987年7月7日に発行されたグリフィンのアメリカ合衆国特許第4,678,579号に解説されている。同タイプの他の装置と同様に、彼らの装置においては、顕微鏡スライドに付着される細胞の懸濁液は細胞遠心分離器具 (device) のサンプルチャンバーに収納される。このような遠心分離機は、通常、それぞれ1つのサンプルチャンバーと、1つのフィルターパッドホルダーと、1つのスライドホルダーとを備えた複数のそのような細胞遠心分離器具を装着するように設計されている。よって、複数の顕微鏡スライドが同時に作成可能であり、そのような細胞懸濁液は遠心力により、サンプルチャンバーからフィルターパッドの開口部を通過してスライド表面へと送られる。このフィルターパッドはス

ライドの付着面側に固定されており、細胞を含んだ細胞運搬液の横方向の流通と、その結果としてのロス可能な限り阻止し、細胞運搬液がスライド上に付着される際に細胞運搬液の液体成分を吸収する。

前記アメリカ合衆国特許第4,341,710号の発明者であるアラン・ジェー・ゴードンは多くの点でシャンドン社の従来式機械を改良した。その改良とは基本的には、スライドとフィルターカードクランプ手段とを、細胞遠心分離機の遠心ロータからユニット体として (クランプ手段と共に) 取り外し可能なサンプルチャンバーユニットの一部として組み入れるものである。

時には遠心分離を行う前に液体吸収性フィルターパッドを予備湿潤させ、細胞運搬液サンプルが顕微鏡スライドの方向に流通する際の細胞運搬液サンプルに対する吸引力を最小限に押えることもある。その結果、細胞がスライドに接着する機会を得る前に細胞をロスし、フィルターパッド内へと拡散させる。

さらに、過去においては、遠心薬剤分析機と細胞遠心分離機の両方において、通常では遠心分離作用の影響下以外では液体の流出を防止するような深さを有するサンプルチャンバーが利用されてきた。エヌ・ジー・アンダーソンのZ. 分析化学誌 (Z. Anal. Chem.) (1972年版) 257-271の表題「急速分析機の開発 (The Development of Fast Analyzers)」と、1984年1月31日発行のウエルズのアメリカ合衆国特許第4,428,323号を参照されたい。

細胞運搬液サンプルを顕微鏡スライド方向に推進し、スライド上に付着させる遠心力利用細胞遠心分離機の開発前には、顕微鏡スライド上へ細胞を付着させるために、細胞運搬液サンプルは重力を利用した沈降技術によってスライド上に送られていた。ジー・Th. エイ・エム・ボッツ他の「アクタシトロジカ 8 (ActaCytologica 8)」誌 (1964年版) 234-241の記事を参照されたい。

今日の細胞遠心分離技術は、そのような沈降技術よりも大幅に優れたものである。これは高遠心速度の活用によって達成されるものである。だが、細胞運搬液に浮遊した細胞のスライド上への沈降速度は、細胞が付着されるスライド面の横方向にかかる水圧力よりもかなり大きいものである。

実際には、今日のシステムは液体保持能力に影響を及ぼすフィルターパッド厚と、遠心分離処理中にスライドに対してフィルターパッドを保持するクランプ力との間のトレードオフを採用している。このため、現行システムの性能に実質的な限定を加えることとなる。例えば、便利なクランプ反発力を備えており、フィルターパッドへの流体速度を非常に遅くしたい場合には、非常に薄いフィルターパッドを採用しなければならない。これらの条件のもとで、サンプル量はそのようなフィルターが保持可能な液体容積に制限される。大量のサンプル液が関与する場合には、相対的に厚いフィルターパッドを使用

し、液体サンプルの液体成分を大量に吸収保持させなければならないが、その場合には、流速は過度に速くなり、充分な細胞回収が困難となる。

細胞のロスとは、充填されたサンプルチャンバーの静止状態から操作の最終的な安定速度状態に至るまでの変動時にも発生する。このようなロスは、サンプル液が遠心分離処理の開始前においてフィルターパッドと接触する際に最大となる。遠心作用とは無関係なフィルター内への横方向流は、クランプ力、フィルター特性、及びシステム構成の影響によって生じる。スライドに対して細胞を沈降させる遠心力作用が介在しない場合には、細胞は液体と共にフィルター内へと流入する傾向が存在する。もし大量のサンプル液がこれらの条件下でフィルター内に流入すると、その量に応じた細胞が失われることになる。よって、液体サンプルがフィルターパッドと時期尚早に接触することがないように、何等かの手段が提供されなければならない。アラン・ジェイ・ゴードン（第4,391,710号）はシャンドン社製品に傾斜チャンバーを提供することによってこの目的を達成した。一方、ジョン・ウエルズ（第4,428,323号）は、エヌ・ジー・アンダーソンが、いわゆる「急速分析機」にて為したように、そのようなサンプルの時期尚早な排出に対抗する堰部としてサンプル液用のウエル（well）部を設けた。必要な力、即ち運搬速度は、そのウエル部の深さと堰部の傾斜とによって決定されるものである。

上記の構造により、細胞の中途ロスは大幅に減少するが、それでもまだ無視できない程度は発生する。ジョン・ウエルズのシステムにおいてさえ、スタート時に液体は堰部上方に押し出され、液流通路へと流入する。細胞運搬サンプル液はスタート時に空の液流通路へと流入する。細胞はサンプル液中で均一に浮遊しているので、フィルターパッドとの最初の接触で細胞含有液の吸収が生じる。

細胞ロスは細胞がスライド上に収集された後の湿潤固定中にも発生する。通常においては、スライド上に収集された細胞に対して水性アルコール固定液が噴霧されるか、あるいはスライドは水性アルコール固定液中に浸潤される。スライド上の残余液はこの固定液と作用し、溶液付着に関与する力の作用と相まって、通常は接着性を有する細胞をスライドから引き離すことが多い。

サンプルチャンバーへの細胞含有液サンプルの追加後にサンプルチャンバー内に固定液を追加させ、細胞を遠心処理時に固定させようとする遠心分離機製造業者も存在する。しかし、サンプルから固定液を分離する手段の提供はなく、よって、細胞はスライド上に収集される前に固定されることになる。この結果、細胞は適正に平坦状態とはならず、よって、スライドに適正状態では付着できず、従って、劣悪な付着構造を創出し、細胞が失われる結果を招く。細胞の沈降に続く遠心処理中に、スライド上での固定を提供する機械器具は現存しない。

発明の概要

遠心力の推進力を利用してそれぞれのサンプルチャンバーから細胞運搬液を顕微鏡スライド方向に移動させ、スライド上での最大限の細胞の捕捉（capture）を達成させ、さらに、スライド上での細胞付着以降に液体サンプルの液体成分を適正に排除させることを目的として、本発明は細胞遠心分離装置と方法をさらに改善している。

この目的は、細胞遠心分離機と共に使用する改良器具を提供することで達成される。この改良器具とは複数の液体収容チャンバーを備えたものであり、これらのチャンバーは、共通の1本の導管と順次関係して連通しているものであり、この導管は部分的にはこの器具によって提供され、部分的にはロータによって移動されるクランプ手段によって提供されている顕微鏡スライドのホルダーに通じており、この導管の放出端部を横断し、そのようなスライドホルダー内に、スライドホルダーによって保持されているスライドの対面側と液体封止状態で液体吸収パッドを受け止めて保持する介在手段を存在させるものである。この導管に沿って順次配置された少なくとも2つの液体収容チャンバーが存在し、これら器具それ自体は細胞遠心分離機械のロータ内に通常のマルチ状態で配列されているものである。

これらチャンバーは内部の液体を遠心力による効果で導管に順次放出するように配列されたいかなるタイプのものでも構わず、少なくとも2つあればよい。好適には、各装置のフィルターパッドホルダーと顕微鏡スライドホルダーとに並んで最接近状態に位置するチャンバーは導管上方に配置されており、その底部は導管内に開いているものである。フィルターパッドの予備湿潤液は、好適にはこのチャンバー内に収容されており、細胞運搬液サンプルがそこを通過する前にフィルターパッドを湿潤させ、細胞運搬サンプル液とフィルターパッドとの間の液体バリアーを提供するものである。好適には、サンプル液はウエル部として導管の下方に延びた並行する第2チャンバー内に収容されている。このウエル部は液体にかかる遠心力作用による以外は、この液体の導管内への流出を堰止めるものである。

フィルターパッド予備湿潤液が細胞遠心分離器具のフィルターパッドホルダーとスライドホルダーに最接近して配置されたチャンバー内に収容されるなら、細胞運搬液サンプルと接触する前にフィルターパッドを湿潤させておくことでフィルターパッドを予備的に準備することになる。細胞運搬液サンプルがフィルターに到達するとき、そのようなフィルターは細胞を含まない予備流液を既に吸収していることになり、その後続く細胞運搬液の横方向流をさらに制限するであろう。

細胞運搬液サンプルは、予備湿潤液が完全に吸収されるまでに導管内に放出されて導管を通過するので、残留予備湿潤液はバリアーを形成し、細胞運搬液が最終的な

定ロータ速度が達成されるまでフィルターパッドと接触することを防止する。そのような最終的ロータ速度が達成されると、細胞の最大沈降速度が達成されたことになり、従ってフィルターパッド内への細胞の横方向拡散を最小限に押さえる。

本発明によれば、フィルターパッドの構成は、細胞がスライド上に付着されて保持されることで細胞がサンプル液から引き出された後に、サンプル液が通過する開口部周囲にてフィルターパッドが通常よりも薄くても、液体サンプルの液体成分を吸収する能力を備えたものが適切である。この目的を達成するため、新規であって、二重の厚みを有するフィルターパッドが採用される。このパッドは液体通過開口部の縁部で相対的に薄くなっており、その他の箇所では相対的に厚くなっている。この構造は、その開口部の縁部にてフィルターパッド材料のシングル厚シート材を圧縮するか、あるいは、最終的フィルターパッドの望まれる相対的に厚い方の部分のみを2倍の厚みとするようにして、フィルターパッドをフィルターパッド材料の2枚シートで製作することで達成される。又は、通常のシングル厚フィルターパッドを、フィルターパッドクランプのクランプ面として、フィルターパッドインデントリングの提供と共に使用が可能であり、細胞運搬液体サンプルの液体成分のフィルターパッド内への流速を制限する。そのようなインデントリングはいかなるタイプのフィルターパッドにも有利に採用できる。

細胞遠心分離機の使用の便利性に貢献する本発明のさらなる構造的特徴は以下の通りである。

1. 各器具に、プラスチック材料製であって、器具本体と一体的に成形されており、器具が再使用されるときには使用済みフィルターパッドを取り外し、あるいは交換できるフィルターパッドホルダーを提供し、又は、各器具に内蔵成形あるいは堅固に保持されており、使用後には器具をそっくり廃棄するようなフィルターパッドを提供する。これは、細胞を付着させないでスライドを取り出せるようにする手段の提供で達成される。

2. 手動操作レバーアーム手段で容易に開放可能であり、交換細胞遠心分離サンプル器具で反復して使用するロータ上に搭載可能、あるいは好適には取り外せないように固定的に搭載される、フィルターパッドホルダーとスライドホルダーのスプリング起動クランプ機構を提供する。そのようなクランプ手段はこの細胞遠心分離器具が存在しなければ、ガラス製のスライドと接触して破壊することはない。遠心分離器具は、通常はクランプ手段によって提供されるスライドホルダーのその部分にガラススライドが配置されるまでロータ上に設置されることはない。

3. フィルターパッドを導管に対して自動的にアラインさせる手段を提供し、その導管を通じて細胞運搬サンプル液と他の液体が通過する。

本発明のマルチチャンバー器具は細胞運搬サンプル液がフィルターパッドと顕微鏡スライドに到達する前にフィルターパッドを予備湿潤させておくのみならず連続的遠心分離操作の一部として細胞をスライド上に固定させる。従って、固定液は複数のチャンバーのうちでサンプルチャンバーの次のチャンバー内に導入され、液体サンプルの流れに続いてそこから連続的な流れを形成させる。

方法の観点から述べれば、本発明は本装置の使用に関する手順を提供する。この手順は細胞運搬液サンプルを複数のチャンバーのうちの1チャンバー内に収容するステップと、フィルターパッド湿潤液を順次連続したチャンバーのうちフィルターパッドとスライドホルダー方向の第1チャンバー内に収容するか、あるいは固定液を液体サンプル収容チャンバーの後に続くチャンバー内に収容するステップと、その後の細胞遠心分離装置を操作するステップとを含んでいる。

図面

本発明を実施するための現在考えられる最良実施形態例は添付図面に図示されている。

図1はマルチ型細胞遠心分離器具（機械）を有する本発明の細胞遠心分離ロータの平面図である。

図2は図1の2-2線で切断した垂直一部断面図であって、少々大きめに図示したものであり、一般目的の遠心分離機械に使用するように搭載された状態の図1の細胞遠心分離ロータを示している。

図3は図2の一部拡大右側面図であり、ロータに固定された細胞遠心分離器具とクランプ手段のみを示している。

図4は図3に対応する図であるが、図2の第2チャンバーと同様なもので、図2の2つのチャンバーと連続的に配列されている第3チャンバーを有する実施例である。

図5は図3及び図4の縮尺での斜視図であり、図3及び図4の器具の一部として提供されたフィルターパッド保持手段内に設置されたフィルターパッドを示しており、一般型の取り替え可能なフィルターパッドを保持している状態を示している。

図6は図5の6-6線での垂直断面図であり、拡大尺度で図示されている。

図7は図5に対応するものであるが、完全に使い捨てのフィルターパッド収納器とフィルターパッドとを示しており、このフィルターパッドは本発明の一特徴に従って中央開口部の縁部に薄い部分を有しており、その他の部分は厚くなっている状態を示している。

図8は図7の8-8線での垂直断面図であり、図6と同じ拡大尺度で図示されている。

実施例の詳細な説明

図1から図4、及び図5と図6に示すように、本発明の細胞遠心分離器具10は細胞遠心分離ロータ11に収納さ

れ、並んで設置されている。各器具10は、複数（この場合には2つ）の順次連続して配列された液体収容チャンパーが存在しているという意味でマルチチャンパー型である。チャンパー内の液体は共通の導管内に連続的に放出され、この導管はロータ11に固定された別々のクランプ手段内のフィルターパッド12の保持手段と、顕微鏡スライド13の保持手段とに通じている。

ロータ11は取り外しと交換が可能であり、図2の一般目的用遠心分離機械14上で回転するように搭載されている。本実施例においては、遠心分離機械14には、固定ネジ16によって電動モータ17のドライブシャフト17aに固定されたハブ15が設けられている。電動モータ17はハウジング20のスタンダード19上にブラケット18によって固定されている。ハブ15は、ロータ11の下方に開いている凹型フィッティング11aによって受け止められており、周辺に設けられた一連の溝部11bが、ハブ15から飛び出ている対応する一連のリブ15aと係合する。グラスベイングノブ21は、カバー22から上方に突出し、ロータ11を容易に取り外せるようにしており、遠心分離機械14のロータ11を交換させる。Oリング22aと22bはカバー22とロータ11との間に介在しており、生物学的に有害な物質の漏出を防止する。

各細胞遠心分離器具10の本体（図3参照）は、好適には適当な剛性プラスチック材料、例えば高密度ポリプロピレンにて一体に成形されているものであり、細胞運搬液のサンプル収容のためにその上部にて開口しているチャンパー23を有しており、チャンパー23からの可能な限り多くの細胞が顕微鏡スライド13の対面する前面に付着されて保持されるようになっている。

スライド13はスライドホルダー24内に取り外し可能に挿入される。スライドホルダー24は、好適には前記クランプ手段の一部として提供されるものであり、方形リセプタクル25として示されているフィルターパッドホルダーのすぐ後ろに存在し、フィルターパッド12はその内部に上部開口部25aを通して着脱可能に挿入されている。

サンプルチャンパー23は導管26よりも下方にくぼんでおり、そのチャンパー壁内の横方向放出ポート23aを介してフィルターパッドホルダー25と連結しており、そのくぼみは遠心力の影響下以外ではそのチャンパーに収容されたサンプル液の漏出を防止する堰部として作用する。チャンパー23からの液体の放出速度はチャンパーの前方壁23bの傾斜によって決定される。遠心力によってのみチャンパー内の液体が放出されるように液体を保持するチャンパーの堰部構造は、前記の1984年1月31日に発行されたウエルズのアメリカ合衆国特許第4,428,328号に開示されている。一方、凹部の内部から外側に向けて堰部壁22bを傾斜させ、液体放出の速度を制御する技術は前記のエヌ・ジー・アンダーソンの「急速分析機」に開示されている。

導管26は、チャンパー23の放出ポート23aからフィル

ターパッドホルダー25の中央部にまで延びている。フィルターパッド（12参照）は、ホルダー25から取り外して交換が可能なものでもよい（図1から図6参照）。又は、フィルターパッドは成形一体化されるか、又は、図7及び図8にて示すように2倍の厚さのフィルターパッド27のように選択的形状のフィルターパッドホルダー内に安定的に挿入されてもよい。どちらの場合にも、フィルターパッドには、好適には中央開口部12aと27aが設けられ、それらを通してサンプルチャンパーからの液体がスライドの前面に到達しなければならない。

細胞沈降速度と横方向液流の相対的な大きさは、顕微鏡スライドの前面と接触する前あるいは接触後に付着しないで、サンプルチャンパーからのサンプル液の細胞の相当数が横方向にてフィルターパッド内へと通過することでスライドに対して失われるか否かを決定するであろう。フィルターパッド内への細胞ロスを最小限に押さえるためには、スライド上への細胞沈降速度はフィルターパッド内への液体成分の横方向移動速度を超えなければならない。

この目的達成のため、液体排出用の開口部の周辺を相対的に薄くし、液体貯蔵を目的として他の箇所を相対的に厚くすることが望ましい。しかし、通常のシングル厚フィルターパッドでも使用することは可能であり、両者の場合に鋭角的円形峰部（sharp circular ridge）26aを、図4のように導管26の放出端部にてクランプボス26bのクランプ面として、あるいはクランプ面上に提供することが可能である。もしくは、そのようなクランプ面を図3のように平坦形状にしておいても構わない。

クランプ手段28はロータ11上への固定のために提供されており、好適には図1から図4のように作成される。クランプ手段28はシャフト30に固定された一对のクランプアーム29を有しており、シャフト30はベースプレート31の直立部材31a内にそれぞれ回転自在に挿入されており、ベースプレート31は図3と図4のネジ31c等によってロータ11に固定されており、ネジ31cは、好適にはOリング（図示せず）のごとき封止手段を有しており、Oリングはロータとネジ頭との間に介在しており、閉鎖されたロータ内に生物学的に有害な物質を封印するものである。そのようなアーム29は通常は導管26から横断的に延びるフィルターパッドクランププレート26cに面してクランプ位置に保持されている。シャフト30の両端部位置に存在する一对のコイルスプリング32はそれぞれ、そのようなクランプアーム29に対抗して支持するそれぞれの端部32aを有している。クランプ圧力を開放するため、シャフト30にはハンドル33が設けられており、ハンドル33はシャフト30の一端に固定され、使用者がロータ11から器具10の取り外しを望むときには、使用者によって操作されるものである。図7と図8のようにリセプタクルをその周囲に成形する等によって、その保持リセプタクル25内にフィルターパッドが固定されている場合、

あるいは、そこから外れないように保持リセブタクル25に収容されて堅固に保持されている場合には、器具10全体はロータ11のベースプレートホルダー31から取り外され、スライド上への細胞付着後に廃棄されるであろう。クランプ28は再使用のためにロータ11に取り付けられたままとする。

それぞれの凹所25bはフィルターパッド保持部材25cに提供されている。フィルターパッド保持部材25cはフィルターパッド保持リセブタクル25の上部と底部に沿って延びており、遠心分離後にロータ11から器具10が取り外されるときに、遠心分離中にスライド上に付着 (deposited) された細胞が削り落とされること (scraping) を防止する。

一对のピン26dはそれぞれ導管26上に提供され、導管26から横方向に延び出ており、その前方にクランプアーム29を配置し、遠心分離処理の完了時等にレバー33が押圧された際に器具10をクランプ位置から外す。

第2チャンバー34は導管26の上方に配置され、34a部のようにその底部を導管26内部に開いている。チャンバー34はサンプルチャンバー23よりもさらにフィルターパッドホルダー近くに位置している。チャンバー23とチャンバー34の両方の開放上部は、長い挿入可能キャップ35にてそれぞれの液体で満たされた後に通常は固く閉鎖される。

フィルターパッド湿潤液、例えばサリン (saline) 溶液は、チャンバー34に収容される。チャンバー34は数滴の湿潤液 (wetting liquid) を収容するだけの大きさであり、典型的には200マイクロリットル程度のサイズで

あり、その表面張力はチャンバー23からの液体サンプルに先行して、フィルターパッドの開放部12aあるいは27aに液体が流れる遠心力の影響下以外には導管26内での湿潤液の前後移動を防止する。

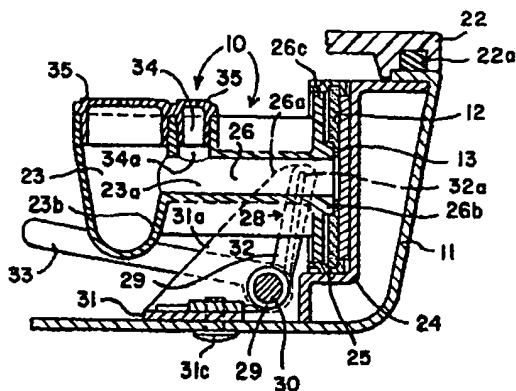
予備湿潤液が従来型の細胞遠心分離機のフィルターパッドに適用されるような場合とは異なり、予備湿潤液の適用を、フィルターの予備湿潤のためと、細胞運搬液とフィルターパッドとの間のバリアーを形成するためとの両方の目的で遠心分離機の連続的操作の一部として用いることは重要なポイントである。

チャンバー23と同様な図4の第3チャンバー36に連続的にチャンバー23とチャンバー34が提供されたとき、前方のチャンバー34は予備湿潤液用に使用される。一方、チャンバー23はサンプル液用として使用され、最後のチャンバー36はスライドに細胞を固定するための50%水性アルコールのごとき固定液用として使用される。

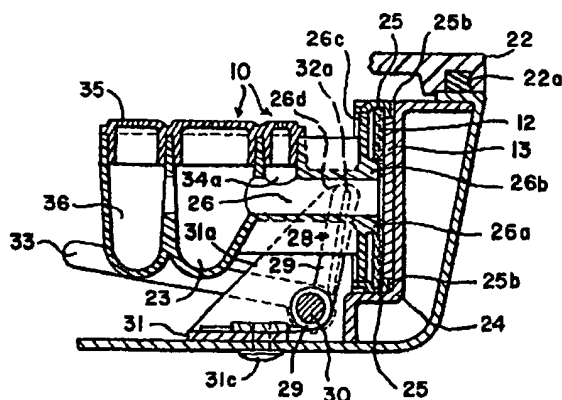
図7と図8のフィルターパッド27は、通常よりも厚いフィルターパッドシート材料を縁部で圧力をかけ、中央開放部27aの周辺で相対的に薄くて高密度部分27bを形成し、フィルターパッドの残余部分で相対的に厚くて荒い部分27cを形成したものであるが、そのような材料を2枚合わせてこのフィルターパッド27を作成することも可能である。

以上本発明を最良実施形態と現在考えられる実施例を紹介しながら説明してきたが、本明細書中に開示された本発明の精神と請求の範囲から逸脱することなく異なる実施形態にこれらの改良を採用することは可能であろう。

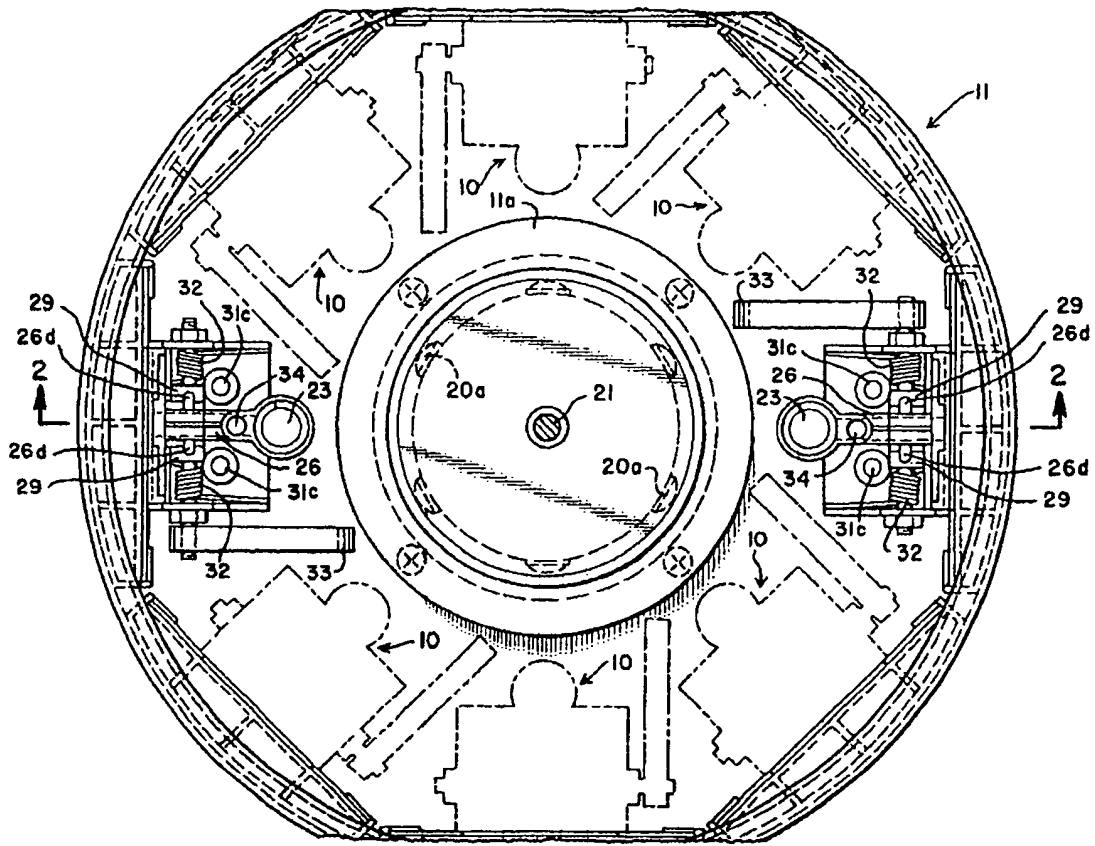
【第3図】



【第4図】



【第1図】

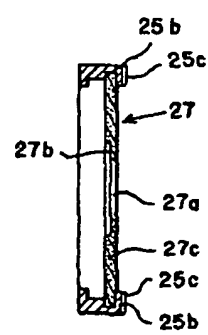
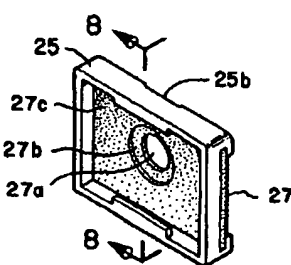
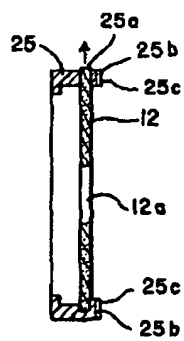
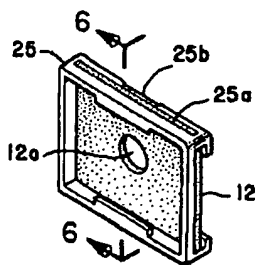


【第5図】

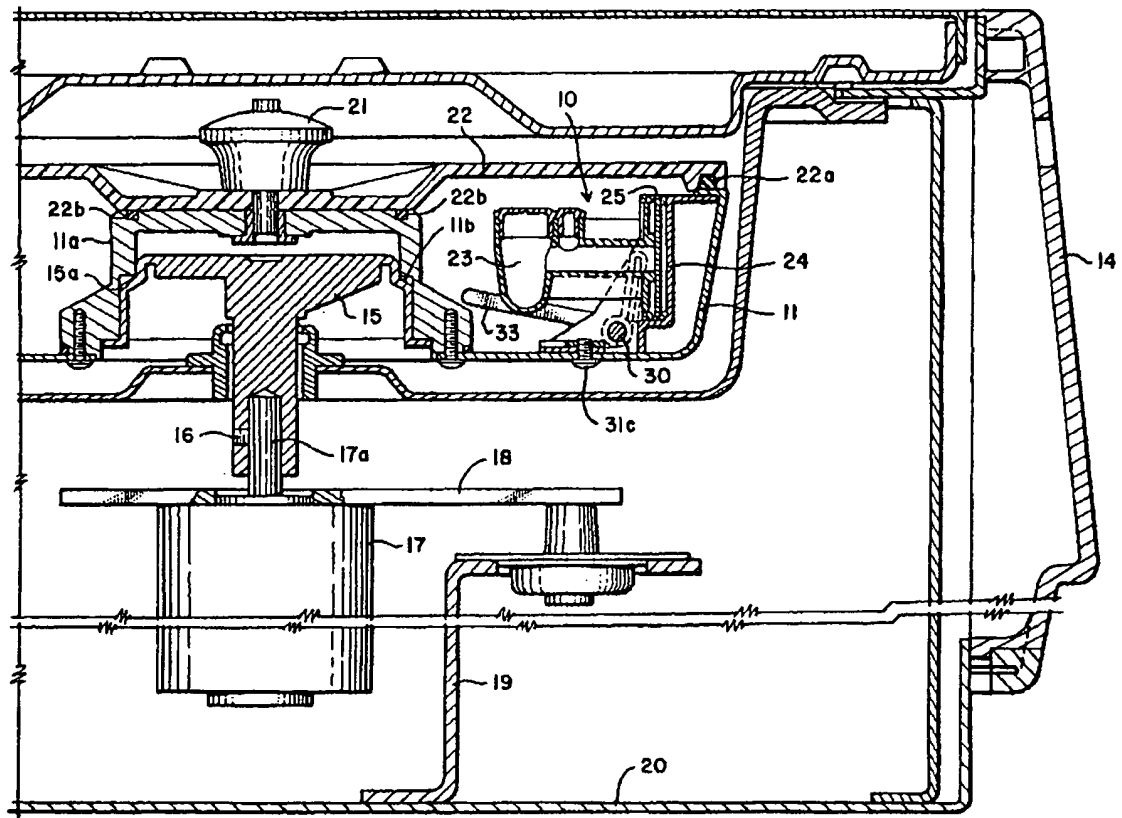
【第6図】

【第7図】

【第8図】



【第2図】



フロントページの続き

(56) 参考文献 特開 昭62-834 (J P, A)
 特開 昭57-110352 (J P, A)
 特開 昭61-147128 (J P, A)
 実開 昭62-9148 (J P, U)
 実公 昭63-39647 (J P, Y 2)

(58) 調査した分野(Int. Cl. ⁷, D B 名)
 G01N 1/28